AUS DER PHYSIOLOGISCH-CHEMISCHEN ANSTALT
DER UNIVERSITÄT BASEL

Untersuchungen über die Wasserstoffionenkonzentration und Pufferung des Speichels.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER ZAHNHEILKUNDE DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT VON

HANS DUSS
VON GROSSWANGEN (LUZERN)

Typparsatz und Offsetdruck der Polygraphischen Gesellschaft Laupen bei Bern
1928

AUS DER PHYSIOLOGISCH-CHEMISCHEN ANSTALT
DER UNIVERSITÄT BASEL

Untersuchungen über die Wasserstoffionenkonzentration und Pufferung des Speichels.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE DER ZAHNHEILKUNDE DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT BASEL

VORGELEGT VON

HANS DUSS
VON GROSSWANGEN (LUZERN)

Typparsatz und Offsetdruck der Polygraphischen Gesellschaft Laupen bei Bern
1928

Genehmigt von der h. medizinischen Fakultät Basel
auf Antrag von *Prof. Dr. Spiro*.

Untersuchungen über die Wasserstoffionenkonzentration und Pufferung des Speichels.

Das Bestreben, die Beziehungen des Speichels zu den Mundorganen und speziell zu den Zähnen zu erforschen, hat schon längere Zeit die Aufmerksamkeit vieler Zahnärzte auf das Gebiet der Speicheluntersuchungen gelenkt. Besonders die Versuche, Zusammenhänge zwischen Zahnkaries und Mundflüssigkeit aufzudecken, haben dazu geführt, die Reaktion des Speichels zu untersuchen.

Schon früh wurden, noch mit einfachsten Mitteln, dahingehende Versuche angestellt. Zunächst wurde die Reaktion mit Hilfe von Lackmuspapier geprüft. *Michel* fand so bei 1300 untersuchten Individuen 900 mal alkalischen Speichel. Diese Ergebnisse waren aber noch sehr ungenau.

Später machte *Dieninger* auf die Bedeutung der Indikatoren aufmerksam. Als solche wurden verwendet Methylorange, Kochenille, Lackmus, Rosolsäure, Phenolphthalein. Die beiden ersteren sind gegen Kohlensäure nicht oder nur schwach empfindlich, der Speichel reagiert auf sie alkalisch, während die drei letzteren gegen Kohlensäure empfindlich sind, und hier deshalb der Speichel sauer reagiert.

Bessere Resultate mittels der kolorimetrischen oder Indikatoren-Methode wurden erzielt mit den Para- und Meta-Nitrophenolreihen, meist mit Hilfe des von *Michaelis* angegebenen Komparators.

Ich benutzte für meine Untersuchungen die elektrometrische oder potentiometrische Methode, welche sehr genaue Werte liefert.

Um die Reaktion des Speichels zu erhalten, bestimmt man hierbei auf elektrischem Wege die Wasserstoffionenkonzentration. Darunter versteht man die Anzahl Wasserstoffionen, ausgedrückt in Gramm-Ion, pro Liter. An Stelle des umständlichen Ausdruckes setzt man nach *Sörensen* den Logarithmus ihres reziproken Wertes, den sogenannten Wasserstoffexponenten p. ph ist gleich dem negativen Logarithmus der Wasserstoffionen-

konzentration. Sauer ist eine Lösung, welche einen Überschuss an $H^{\cdot}$, alkalisch eine solche, welche einen Überschuss an OH' enthält. ph ist bei neutraler Reaktion gleich 7,07, bei saurer Reaktion kleiner, bei alkalischer grösser als dieser Wert.

Da Speichel CO_2-haltig ist, mussten die Messungen in der U-Röhre mit der stehenden Wasserstoffblase ausgeführt werden, weil mit dem strömenden Wasserstoff CO_2 frei wird und dadurch das Resultat zugunsten der alkalischen Reaktion verschoben wird.

Die ganze Apparatur, wie auch den Vorgang der ph-Bestimmung hier auszuführen, erachte ich als überflüssig, da selbes sehr ausführlich im *Michaelis,* Praktikum der physikalischen Chemie, angegeben ist.

Der Wasserstoff wird an den Platinschwamm der Elektrode adsorbiert und die Elektrode wirkt gleich wie eine gewöhnliche Metallelektrode. Die Messung beruht darauf, dass durch die *Nernst'sche* Formel ein bestimmter Zusammenhang zwischen Wasserstoffionenkonzentration der Elektrode und dem Potential gegeben ist. Das ph berechnet sich aus dem abgelesenen Potential wie folgt:

$$ph = \frac{\text{Anzahl Millivolt} - 250}{57{,}7 + (t - 18) \cdot 0{,}2}$$

Zur Bestimmung der Pufferung verwendete ich den durch den Speichel durchströmenden Wasserstoff, da hier die erstere Methode infolge der mehrmaligen Zugabe von HCl bzw. NaOH nicht gut durchführbar war und kleine Abweichungen auch weniger zu bedeuten haben.

Puffer oder Regulatoren sind Stoffe, welche Flüssigkeiten die Eigenschaft verleihen, die Wasserstoffionenkonzentration möglichst konstant zu halten. Sie haben einen Stoss, welchen die Reaktion erhält, aufzufangen und zu parieren. Sie sind für den Organismus von höchster Wichtigkeit, da sie dem Körper ständig die für seine Lebensvorgänge optimale Ionenkonzentration aufrechtzuerhalten haben. Die physiologische Breite der Änderungen der $H^{\cdot}$ und OH'-Ionen ist eine derart geringe, dass an die Pufferwirkung die grössten Ansprüche gestellt werden.

Man unterscheidet im Organismus drei Systeme von Pufferung:

1. Die Kohlensäure und ihre Salze.
2. Primäres Phosphat, als schwache Säure und sekundäres Phosphat, als Base.
3. Die Eiweisskörper, welche als Ampholyte sowohl OH- als auch H-Ionen festzuhalten vermögen.

Mit Hilfe dieser drei Puffer gelingt es dem Körper, jeden entsprechenden Überschuss von Säure oder Base sofort wieder auszugleichen.

Zu 10 ccm Speichel gab ich je fünfmal nacheinander 0,2 ccm 1-n HCl bzw. NaOH zu und bestimmte jedesmal ph. Die erhaltenen Werte brachte ich dann zum besseren Vergleiche in Kurven zur Darstellung, von denen ich einige wiedergeben werde.

Für die vorliegende Arbeit habe ich im gesamten 20 verschiedene Speichel untersucht, und zwar handelte es sich jeweils um gemischten Speichel, d. h. um das Gemisch der Sekrete der drei Speicheldrüsen Parotis, Submaxillaris und Sublingualis mit den Sekreten der Mundschleimdrüsen. Beigemischt sind demselben natürlich, wie es im Munde nicht anders möglich ist, noch Epithelien, Speisereste und verschiedene Bakterienarten.

Die ganze Untersuchung habe ich so vorgenommen, dass ich einmal fünf männliche und fünf weibliche Speichel, welche alle ungefähr zur gleichen Zeit, vormittags zwischen 9—11 Uhr, geliefert wurden, prüfte. Hernach bezog ich von einem Individuum Speichel zu allen verschiedenen Tageszeiten. Schliesslich untersuchte ich noch unter verschiedenen Umständen gewonnenen Speichel.

Untersuchung von zu gleichen Tageszeiten geliefertem Speichel.

Von dieser ersteren Versuchsreihe möchte ich die Resultate der männlichen und der weiblichen Speichel gesondert behandeln, da sie mir nicht gleiche Werte zeitigten.

Die fünf männlichen Speichel ergaben, mit Ausnahme eines einzigen, ziemlich konstante Werte, von ph = 7,47 bis ph = 7,75, waren also ohne Ausnahme schwach alkalisch. Den fünften mit ph = 6,70 untersuchte ich ca. drei Wochen später noch einmal und bekam nun einen noch mehr abweichenden Wert, nämlich ph = 6,06, also einen ziemlich stark sauren Speichel. Der betreffende Mann ist, wie übrigens alle in Betracht kommenden Personen, vollkommen gesund, besitzt ein normales, gut gepflegtes Gebiss, ist aber Gewohnheitsraucher. Nach den später erfolgten Untersuchungen ist diese Abnormität, wenigstens teilweise, auf das Rauchen zurückzuführen.

Ganz andere Werte lieferten mir die fünf Speichel von Frauen. Hier schwankten die Resultate zwischen ph = 6,50 und ph = 7,13, also meist schwach sauren Speichel und keine so grosse

Konstanz der Werte wie bei den Vorigen. Worauf dieser Unterschied zurückzuführen ist, weiss ich nicht, vielleicht auf verschiedene Nahrung. Sowohl Fleischkost, wie auch Muskelarbeit bewirken eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration des Blutes. Es ist aber unwahrscheinlich, dass damit auch eine entsprechende Erhöhung des Speichels einhergeht. Nach dieser Voraussetzung müsste ja der Speichel von Männern eine grössere Wasserstoffionenkonzentration aufweisen als derjenige des weiblichen Geschlechts, da ja Männer im allgemeinen schwerere Arbeit verrichten und auch mehr Fleisch geniessen als Frauen. Interessant ist die Tatsache, dass das ph des Speichels beinahe übereinstimmt mit demjenigen des Blutes, allerdings ist dasjenige des Blutes sehr konstant.

Sehr glaubwürdig scheinen mir die Feststellungen von *Starr* und *Lüscher,* welche die grossen Schwankungen der Speichelreaktion sowohl bei ein und demselben Individuum, wie auch bei gegenseitigem Vergleiche der Speichel mehrerer Personen, hauptsächlich auf die verschiedene Kohlensäurespannung in der Alveolarluft, sowie in der Ein- und Ausatmungsluft, zurückführen. Nur so kann man sich den oft raschen Wechsel der Reaktion erklären. *Starr* zeigte, dass die Reaktion der Mundflüssigkeit mit der CO_2-Spannung der Alveolarluft parallel geht. Steigerte *Lüscher* die CO_2-Spannung im Munde von 0 auf 40 mm Hg, so bekam er eine Zunahme der Azidität um das 10—15fache. Ferner stellten *Lukomsky* und *Gurary* fest, dass durch exogene Reizmomente Veränderungen der Reaktion des Speichels herbeigeführt werden. Durch Reizung des Vagussystems durch Pilokarpin erzielten sie eine Verringerung, durch Hemmung desselben mit Atropin eine Zunahme der H-Ionenmenge. Daneben ist nach denselben auch eine endogene Regulierung durch die endokrinen Drüsen wahrscheinlich, indem durch Injektion endokriner Drüsensubstanz Veränderungen der ph festgestellt wurden.

Pufferung des Speichels.

Die Pufferung irgendeines Sekretes kann man dadurch feststellen, dass man demselben bestimmte Mengen Säure oder Lauge zugibt und nach jeder Zugabe das ph misst. Ist eine solche zu untersuchende Flüssigkeit stark gepuffert, so bleibt ph ziemlich konstant, im andern Falle aber nimmt das ph sehr rasch zu resp. ab, was man am besten mittels Kurven veranschaulichen kann. Unsere zu untersuchende Flüssigkeit, der Speichel, ist sehr

schwach gepuffert, was nachfolgende Tabellen klar vor Augen führen. Welcher Stoff im Speichel als Puffer in Betracht kommt, weiss ich nicht, wahrscheinlich sind es die Eiweisskörper und Karbonate. Eine starke Pufferung des Speichels würde auch ganz nutzlos sein, da durch den ständigen Speichelfluss derselbe sowieso nur ganz kurze Zeit in der Mundhöhle verbleibt, wo er Veränderungen erleiden könnte, und schliesslich auch durch schwach sauren Speichel die Tätigkeit der Amylase und Maltase, also die Mundverdauung, nicht beeinträchtigt wird.

Es wird öfters behauptet, saurer Speichel habe einen schädlichen Einfluss auf die Zähne. Dieses ist aber sicher ganz grundlos, da derselbe kaum in dem Masse sauer werden kann, dass er auf die Zahnsubstanzen auflösend und zersetzend zu wirken vermag. Ob das so veränderte ph hingegen die Entwicklung der für die Zahnkaries in Betracht kommenden Bakterien fördert, weiss man noch nicht. Es wäre dies möglich und es würde demnach die Karies indirekt durch sauren Speichel in günstigem Sinne beeinflusst.

Alle Kurven der zehn Speichel der ersten Versuchsreihe fielen fast gleich aus, so dass die Pufferung im normalen Speichel als sehr konstant bezeichnet werden kann, was bei dem kleinen Gehalt an Puffern ohne weiteres zu erwarten war.

Nachfolgend zwei Kurven:

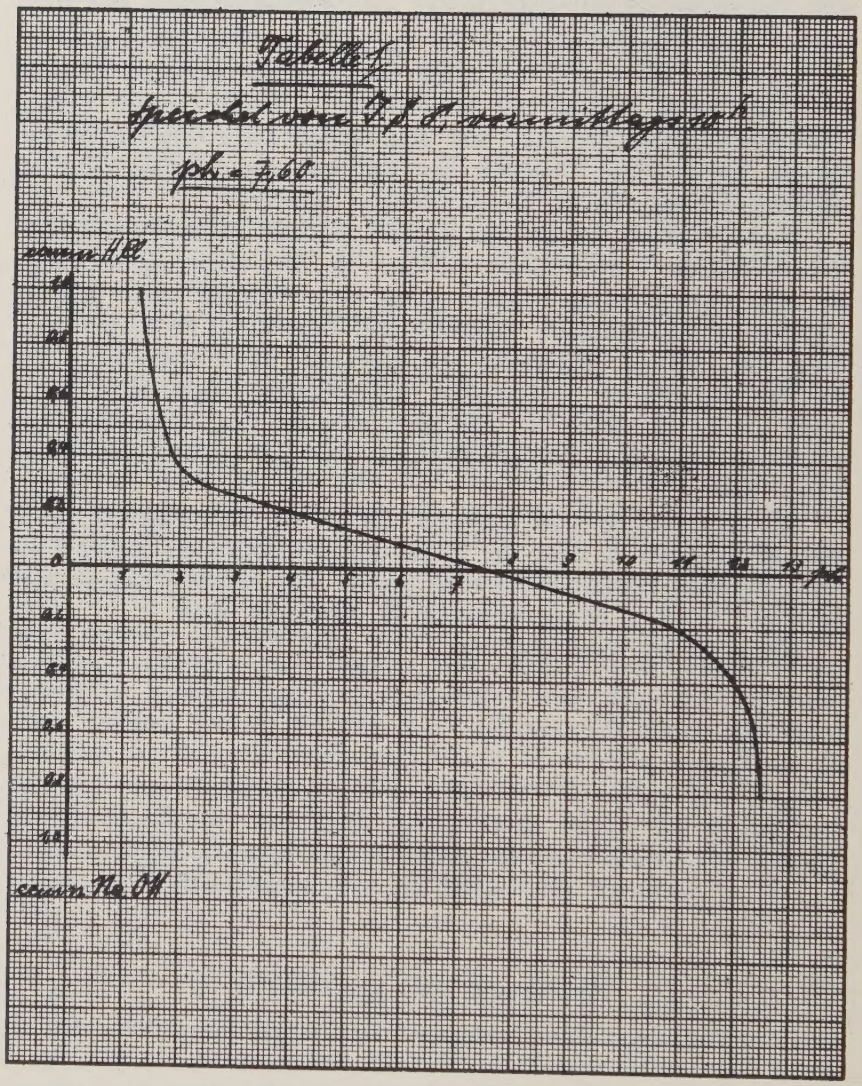


Tabelle 1
Speichel von J. S. 8. vormittags 10h
ph = 7,60
ccm n HCl
ccm n NaOH
ph

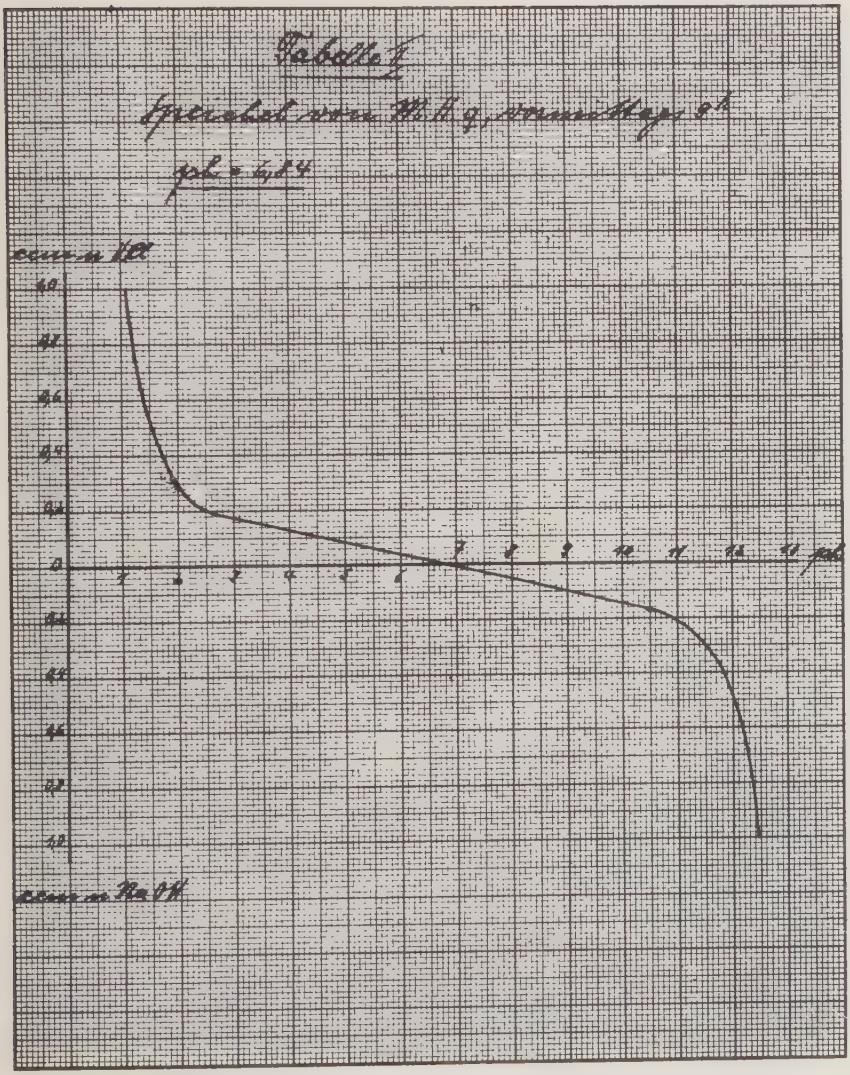


Tabelle II
Speichel von M. H. g, vormittags 9h
ph = 6,84
ccm n HCl
ccm n NaOH
ph

Untersuchung von zu verschiedenen Tageszeiten geliefertem Speichel.

Für diese Versuche habe ich meinen eigenen Speichel geprüft. Es stammen natürlich nicht alle vom gleichen Tage, ich achtete aber darauf, dass ich dieselben unter möglichst gleichen Bedingungen bekam.

Morgenspeichel, und zwar vor dem Frühstück, habe ich drei untersucht. Davon waren alle schwach sauer, von ph = 6,73 bis ph = 6,98. Ebenfalls schwach sauer war noch der unmittelbar nach dem Frühstück gewonnene Speichel, nämlich ph = 6,83, also kein wesentlicher Unterschied gegenüber dem vorigen. Es zeigt also die Speichelreaktion nach Einnahme von Nahrungsstoffen in den nüchternen Magen einen geringen alkalischeren Wert, sicher keine Zunahme der Azidität. Ebenfalls eine leichte Alkalitätszunahme konnte ich nach dem Reinigen der Zähne wahrnehmen. Im Laufe des Vormittags nahm die Alkalität dann rasch zu, indem Speichel von vormittags 10—11 Uhr immer alkalisch war. Ein Speichel, den ich um 11 Uhr lieferte, ergab sogar ph = 7,58. Unmittelbar nach dem Mittagessen näherte sich derselbe mit ph = 7,13 wieder mehr der neutralen Reaktion, also eine merkliche Aziditätszunahme, während er am Abend mit ph = 7,57 wieder auf dem Höhepunkt seiner Alkalität angelangt war. Da ph auch bei ein und demselben Individuum sehr vielen Schwankungen unterworfen ist, so darf auf diese Befunde kein allzu grosser Wert gelegt werden.

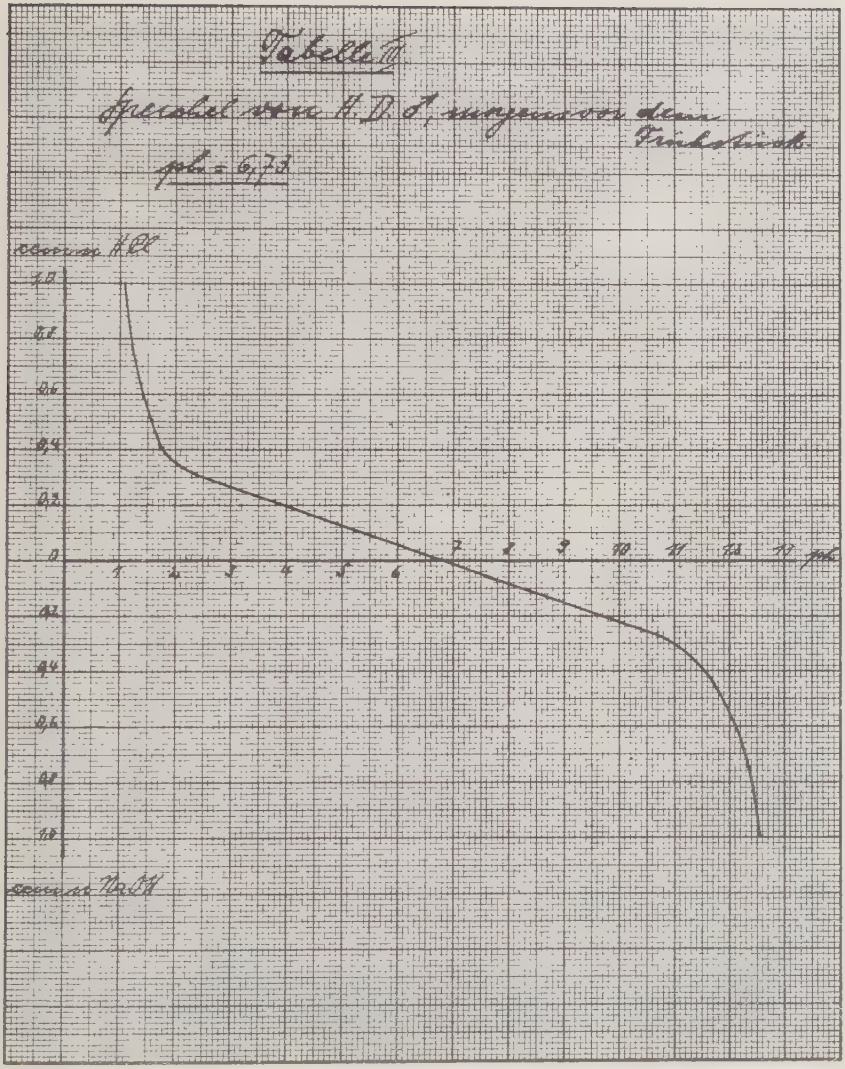


Tabelle III
Speichel von H. D. ♂, morgens vor dem Frühstück.
ph = 6,73
ccm n HCl
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0
0,2
0,4
0,6
0,8
1,0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
ph
ccm n NaOH

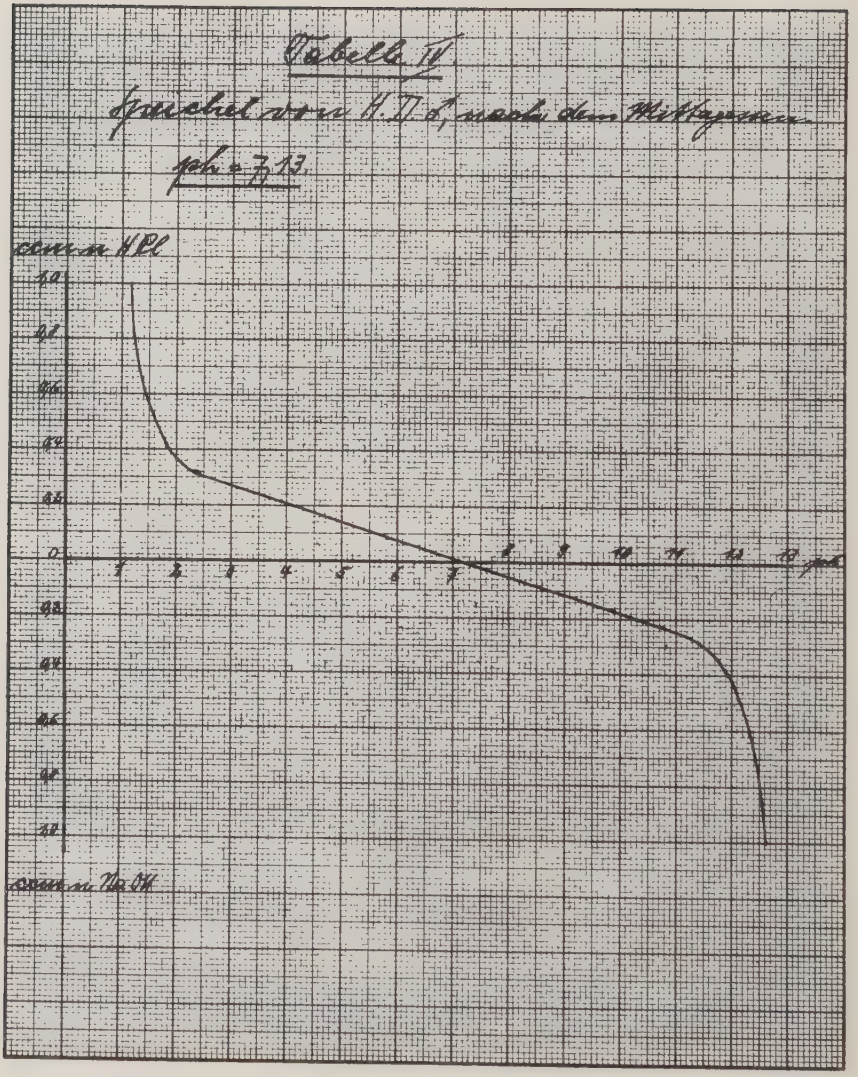


Tabelle IV.
Speichel von H.D. 6, nach dem Mittagessen
ph = 7,13.
ccm n HCl
ccm n NaOH
ph

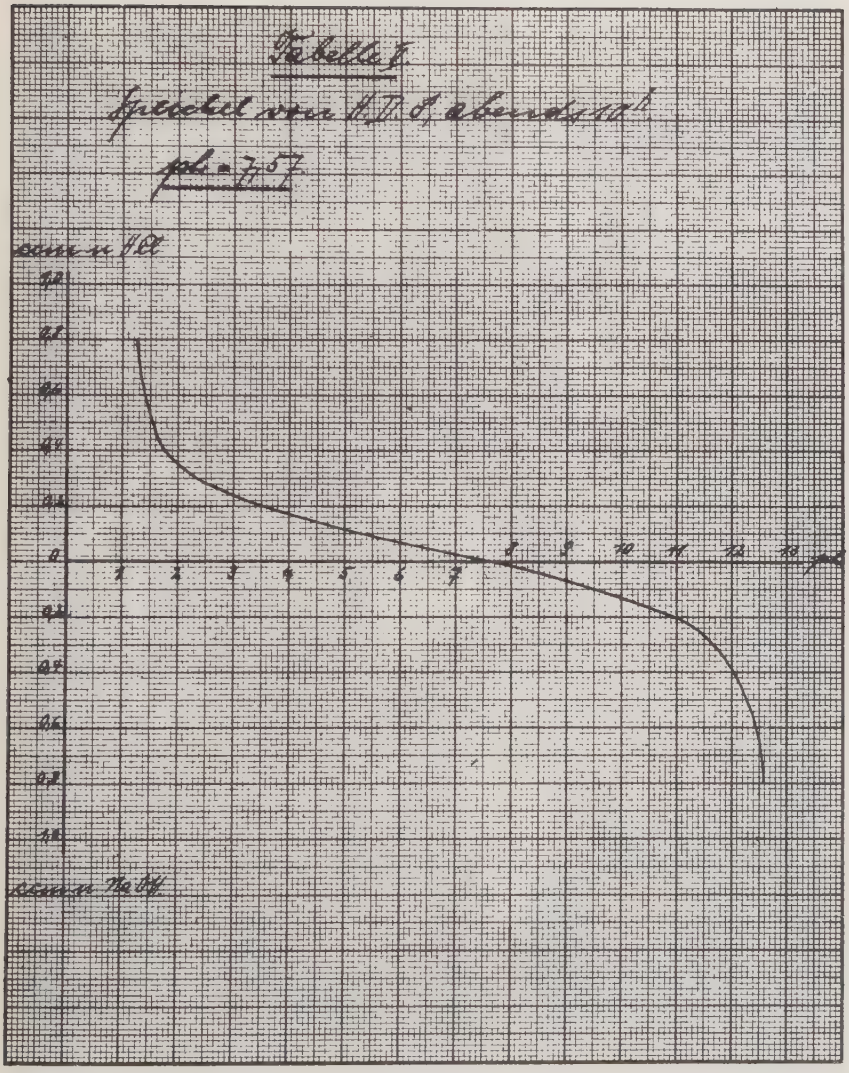
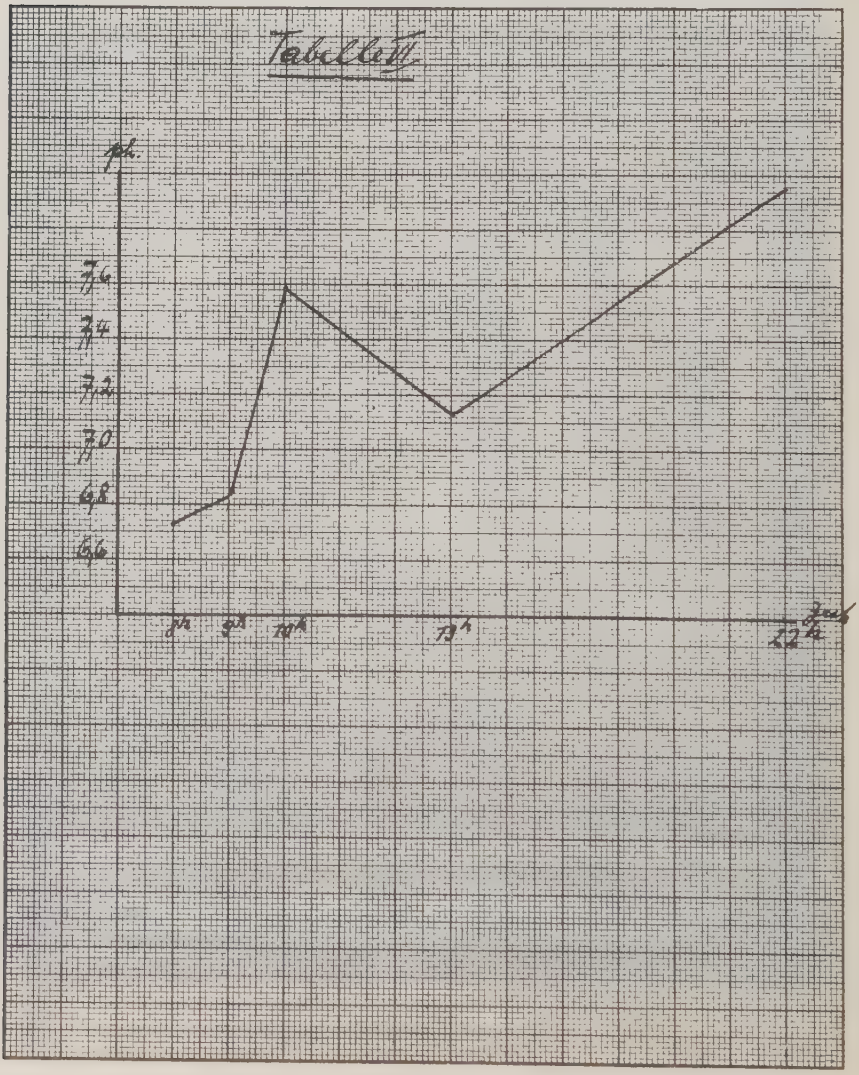


Tabelle I.
Speichel von H.D.S. abends 10h
ph = 7,57
ccm n HCl
ccm n NaOH
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
ph

Um die Schwankungen der Reaktion während eines Tages klar vor Augen zu führen, fasse ich die Daten von verschiedenen Tageszeiten in einer Tabelle zusammen.



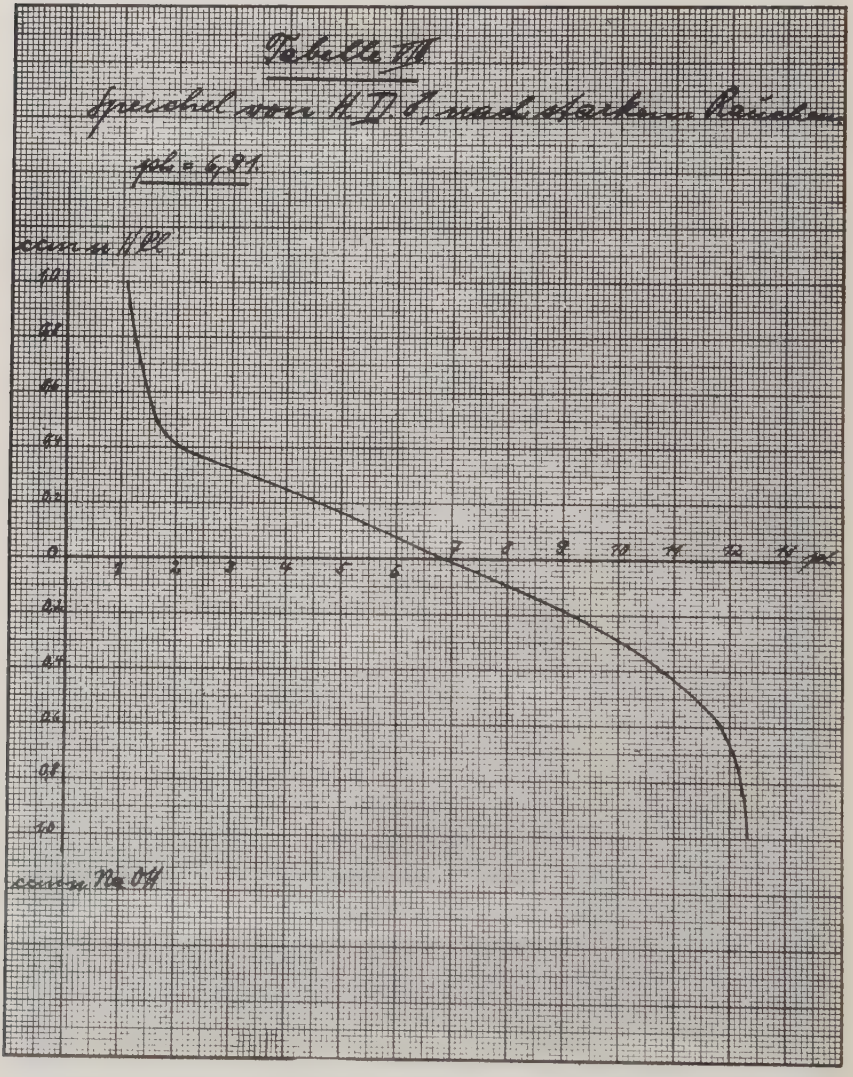
Worauf die verschiedene Reaktion dieser Speichel zurückzuführen ist, habe ich nicht näher untersucht. Wahrscheinlich ist sie abhängig vom Masse der Sekretion, wie vielleicht auch von der Art der aufgenommenen Nahrung, ganz besonders aber, wie schon früher erwähnt, von der CO_2-Spannung der Alveolar- sowie Ein- und Ausatmungsluft. Er scheint bei reichlichem Speichelfluss, sodann aber auch gegen Abend hin überhaupt, mehr alkalisch zu werden. Dass er am Morgen immer schwach sauer reagiert, hängt wohl damit zusammen, dass während der Nacht infolge stark herabgesetzter Atmung die CO_2-Spannung im Körper steigt und damit auch die Wasserstoffionenkonzentration des Speichels zunimmt. Nur so ist es zu erklären, dass im Laufe des Morgens seine Azidität abnimmt und derselbe ca. zwei Stunden nach dem Aufstehen alkalisch wird.

Untersuchung von unter anderen Bedingungen gewonnenem Speichel.

Hier habe ich zunächst Speichel von Gewohnheitsrauchern untersucht. Wie ich schon früher erwähnte, ist es mir aufgefallen, dass der Speichel von starken Rauchern eine höhere Wasserstoffionenkonzentration aufwies. Ich habe daraufhin noch Speichel von anderen solchen Personen untersucht und ähnliche Resultate bekommen. Um zu prüfen, ob dieses Ergebnis wirklich auf das Rauchen zurückzuführen sei, machte ich die Versuche mit meinem eigenen Speichel. Ich selber rauche sehr wenig. Ich prüfte meinen Speichel nach einstündigem starkem Rauchen und bekam ph = 6,91, darauf zur gleichen Tageszeit, nachdem ich mehrere Tage nicht geraucht hatte und erhielt jetzt ph = 7,01. Nun ist bekannt, dass Speichel von Rauchern einen grösseren Rhodangehalt aufweist, als Speichel von Nichtrauchern. Ich bestimmte daher jeweils den Gehalt an Rhodan. Die Bestimmung geschah mit Ferrichlorid auf kolorimetrische Weise. Der erste Speichel enthielt 7,63 mgr Rhodan auf 100 ccm, während letzterer nur etwas mehr als die Hälfte des vorigen, nämlich 4,15 mgr Rhodan ergab, also einen ganz respektablen Unterschied. Wenn auch die dahingehenden Untersuchungen meines eigenen Speichels bei den bekanntlich grossen Schwankungen des ph keineswegs beweisend sind, so ist es doch nicht unwahrscheinlich, dass derselbe durch das Rauchen in seiner Reaktion beeinflusst wird, und zwar, wie schon gesagt, in der Weise, dass seine Azidität durch Rauchen zunimmt. Dass dabei das Rhodan eine Rolle

spielt, ist bei der sehr geringen Menge, in welcher dasselbe im Speichel enthalten ist, kaum anzunehmen.

Wie die entsprechende Tabelle zeigt, ist Raucherspeichel gleich gepuffert wie die andern.

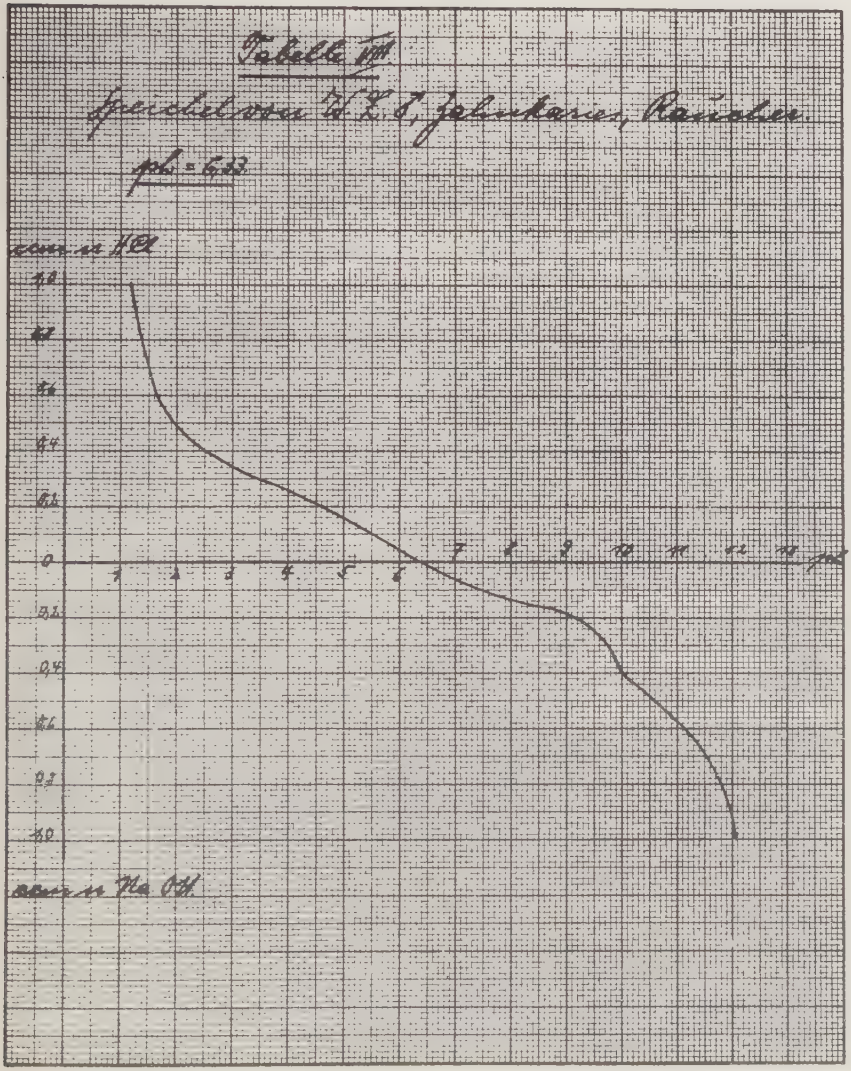


Zum Schlusse habe ich noch einen Speichel untersucht von einem Manne, dessen Gebiss ziemlich viele kariöse Zähne aufweist, mit dem aussergewöhnlichen Resultat ph = 6,33. Da der Mann auch leidenschaftlicher Raucher ist, so kann man natürlich

dieses Ergebnis nicht allein der Zahnkaries zuschreiben, trotzdem sie daran wohl die Hauptschuld tragen wird. Auch für diesen Speichel habe ich die Rhodanbestimmung gemacht, welche mir denn auch 10,75 mgr % Rhodan ergab.

Bei Zahnkaries wird der Speichel wohl erst im Munde, durch den sauren Inhalt kariöser Zahnhöhlen, sauer.

Interessant ist nun die Kurve dieses Speichels. Er scheint etwas stärker gepuffert zu sein als gewöhnlicher Speichel, auch zeigt die Kurve keinen so regelmässigen Verlauf wie sonst.



Harnuntersuchungen.

Anschliessend an die Speicheluntersuchungen machte ich noch die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration und Pufferung von Harn. Hiefür untersuchte ich von demselben Menschen den ersten Harn am Morgen, dann den Harn um 11 Uhr vormittags und schliesslich den letzten Harn abends. Der Harn stammt aller vom gleichen Tage, da ja hier das ph durch die Nahrung stark beeinflusst wird und man deshalb nicht die richtigen Resultate bekommen würde. Es variierten die Werte zwischen ph = 5,11 und ph = 5,44. Harn ist also ziemlich stark sauer, und zwar besitzt der erste Harn am Morgen die grösste Azidität, die dann bis zum Abend konstant im Abnehmen begriffen ist. Wir haben also hier ganz ähnliche Verhältnisse wie beim Speichel. Vielleicht ist auch die Ursache, warum wir am Morgen die saurere Reaktion haben als am Abend, bei beiden die gleiche. Während der Nacht, wenn sich der Organismus erholt, haben wir eine relativ grössere CO_2-Ausscheidung ins Blut, und darauf beruht wahrscheinlich die festgestellte Tatsache. Gepuffert ist der Harn bedeutend stärker als der Speichel, was die Tabelle am besten zeigt, welche die Kurven des ersten und des letzten Harnes nebeneinander enthält.

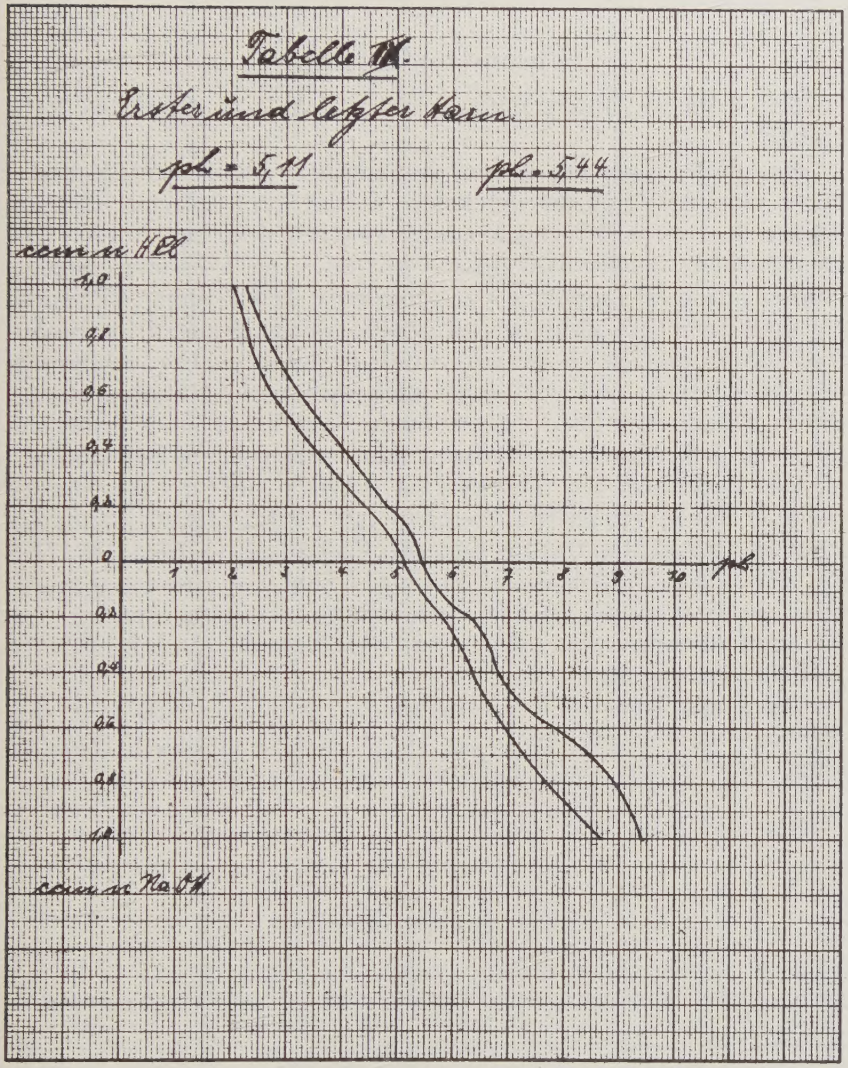


Tabelle IX.
Erster und letzter Versuch
pH = 5,11
pH = 5,44
conc. an KCl
1,0
0,8
0,6
0,4
0,2
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
pH
0,2
0,4
0,6
0,8
1,0
conc. an NaOH

Zusammenfassung.

Durch meine Untersuchungen habe ich kurz folgendes festgestellt:

Männlicher Speichel ist durchschnittlich alkalischer als weiblicher. Die Alkalität des Speichels nimmt vom Morgen bis zum Abend zu, zwar nicht gleichmässig; er weist aber am Morgen das kleinste und abends das grösste ph auf. Die Wasserstoffionenkonzentration der Speichel verschiedener Individuen, wie auch ein und desselben Menschen ist vielen Schwankungen unterworfen. Das ph des Speichels wird vor allem durch die CO_2-Spannung der Alveolarluft und vielleicht auch durch die Nahrung beeinflusst. Kleine Einflüsse haben auch Zahnkaries und Rauchen. Die entsprechenden Befunde beim Harn gehen diesen fast parallel.

Die Pufferung des Speichels ist schwach und in allen untersuchten Fällen annähernd dieselbe. Als Puffersubstanz kommen wohl vor allem die Muzine und die Carbonate in Betracht. Mit der schwachen Pufferung des Speichels hängt es zusammen, dass seine Azidität so weitgehend von der Kohlensäurespannung der Atemluft abhängt, wie schon von verschiedenen Forschern festgestellt worden ist.

Teleologisch erscheint die gefundene schwache Pufferung des Speichels wohl verständlich, da ja im Magen für die Pepsinwirkung eine extrem saure Reaktion vorhanden sein muss.

Literaturverzeichnis.

Dieninger: Chemie der Mundhöhle in Scheffs Handbuch 1922.
Laband: Die Wasserstoffionenkonzentration und einige ihrer Anwendungsgebiete in der Medizin. D. M. f. Z. 1925, Heft 2.
Michaelis: Die Wasserstoffionenkonzentration.
Michaelis: Praktikum der physikalischen Chemie. 1926.
Michel: Die Mundflüssigkeit und ihr Einfluss auf die in der Mundhöhle ablaufenden pathologischen Vorgänge.
Türkheim: Die Wasserstoffionenkonzentration des Speichels. D. M. f. Z. 1925, Heft 2.